

氏名	清 水 成 人
学 位 の 種 類	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第3432号
学位授与年月日	平成10年 3 月24日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当者
学 位 論 文 名	Activation of mitogen-activated protein kinases and activator protein-1 in myocardial infarction in rats (ラット梗塞心筋におけるmitogen-activated protein kinase及び activator protein-1の活性化)
論文審査委員	主 査 教 授 吉川 純 ・ 副主査 教 授 岩尾 洋 副主査 教 授 森井 浩世

### 論 文 内 容 の 要 旨

(目的) 心筋梗塞部位において, transforming growth factor  $\beta$ 1(TGF- $\beta$ 1), collagen I, collagen IIIのような斑痕形成に関係する種々の遺伝子発現が増加することが報告されているが, in vivoにおいて, それらの発現を調節する細胞内情報伝達系についてはよく知られていない。本研究では, 虚血傷害過程の情報伝達系を明らかにするために, mitogen-activated protein kinase(MAPK) 活性及びactivator protein-1(AP-1), nuclear factor- $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B) DNA結合活性をin vivoモデルで検討した。

(方法) ウィスターラットを用い左冠動脈前下降枝を結紮し心筋梗塞モデルを作成した。心筋虚血梗塞部において, ゲル内リン酸化法及びin vitroキナーゼ法によりMAPK活性,ゲルシフト法によりAP-1, NF- $\kappa$ B DNA結合活性, ノーザンブロット法によりTGF- $\beta$ 1, collagen I, III mRNA発現を測定した。

(結果) p42 extracellular signal-regulated kinase(ERK), p44ERK,p38MAPK活性は冠動脈結紮5分後にそれぞれ5.2倍, 4.3倍, 1.9倍 ( $P<0.01$ ) 増加し, 30分後には元のレベルまで回復した。p55 c-Jun NH2-terminal kinase(JNK), p46JNK活性は冠動脈結紮15分後にそれぞれ4.0倍, 3.2倍 ( $P<0.01$ ) 増加し24時間後には元のレベルまで回復した。AP-1は冠動脈結紮1日後より増加を認め, 3日後に最大8.7倍まで増加した。NF- $\kappa$ B DNA結合活性においては冠動脈結紮2日後より増加を認め, 3日後に最大7.1倍 ( $P<0.01$ ) 増加した。また, TGF- $\beta$ 1, collagen I, collagen III mRNA発現は心筋梗塞1週間後それぞれ6.3倍, 15.2倍, 12.0倍 ( $P<0.01$ ) となり, 3週間まで増加が持続した。

(考察) in vivo心筋梗塞モデルにおいてMAPK活性が増加し, それに引き続いてAP-1 DNA結合活性が増加した。また, NF- $\kappa$ B DNA結合活性もAP-1 DNA結合活性に遅れて増加した。これらの情報伝達機構は心筋虚血や心筋障害に関連して活性化し, TGF- $\beta$ 1, collagen I, collagen III mRNA発現などを介し心筋梗塞後の梗塞巣再構築に寄与していると考えられる。

### 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

心筋梗塞部位において, transforming growth factor  $\beta$ 1(TGF- $\beta$ 1), collagen I, collagen IIIのような斑痕形成に関係する種々の遺伝子発現の増加が報告されているが, それらの発現を調節する細胞内情報伝達系についてはよく知られていない。本研究では, 虚血傷害過程の情報伝達系を明らかにするために, mitogen-activated protein kinase(MAPK) 活性及びactivator protein-1(AP-1), nuclear factor- $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)DNA結合活性をin vivoで検討した。Wistarラットを用い左冠動脈前下降枝を結紮,

心筋梗塞モデルを作成し、心筋虚血梗塞部においてゲル内リン酸化法及びin vitroキナーゼ法によりMAPK活性を、ゲルシフト法によりAP-1, NF- $\kappa$ B DNA結合活性を、また、ノーザンブロット法によりTGF- $\beta$ 1, collagen I, collagen IIIのmRNA発現を測定した。p42 extracellular signal-regulated kinase(ERK), p44ERK, p38MAPK活性は冠動脈結紮5分後にそれぞれ5.2倍, 4.3倍, 1.9倍 ( $P<0.01$ ) 増加し、30分後には元のレベルまで回復した。p55c-Jun NH<sub>2</sub>-terminal kinase(JNK), p46JNK活性は冠動脈結紮15分後にそれぞれ4.0倍, 3.2倍 ( $P<0.01$ ) 増加し、24時間後には元のレベルまで回復した。AP-1DNA結合活性は冠動脈結紮1日後より増加を認め、3日後に最大8.7倍まで増加した。NF- $\kappa$ B DNA結合活性においては冠動脈結紮2日後より増加を認め、3日後に最大7.1倍 ( $P<0.01$ ) 増加した。また、TGF- $\beta$ 1, collagen I, collagen IIIのmRNA発現は心筋梗塞1週後、それぞれ6.3倍, 15.2倍, 12.0倍 ( $P<0.01$ ) となり、3週後まで増加が持続した。in vivo心筋梗塞モデルにおいてMAPK活性が増加し、それに引き続いてAP-1 DNA結合活性が増加した。また、NF- $\kappa$ B DNA結合活性もAP-1 DNA結合活性に遅れて増加した。以上の結果より、これらの情報伝達機構は心筋虚血や心筋障害に関連して活性化し、TGF- $\beta$ 1, collagen I, collagen IIIのmRNA発現などを介し心筋梗塞後の梗塞巣再構築に寄与している可能性が示唆された。

心筋梗塞瘢痕形成に関係する種々の遺伝子発現を調節する細胞内情報伝達系についての報告はなく、今後の領域の研究に寄与する点は少なくないと考えられる。よって、本研究者は、博士(医学)の学位を授与されるに値するものと認められた。